

跨膜蛋白 16A: 钙激活氯通道的最新进展*

陈娅斐 李 婷 安海龙 于 慧 张素花 韩英荣 张玉红 郭 鹏 展 永**

(河北工业大学理学院生物物理研究所, 天津 300401)

摘要 钙激活氯离子通道(calcium-activated chloride channels, CaCCs)介导了众多生理过程, 包括跨上皮离子与液体分泌、心肌和神经兴奋、感觉传导、平滑肌收缩和受精过程等, 但目前对于其分子基础等重要问题尚未研究清楚。综述了最新报道的CaCCs 分子基础跨膜蛋白 16A(TMEM16A)的发现过程、基因结构和功能、离子通道电生理特性、相关病理与药理功能的一些热点问题, 并展望了该研究领域的发展趋势。

关键词 钙激活氯离子通道, 分子基础, 跨膜蛋白质 16A, 电生理, 药理学

学科分类号 Q6-3, R96

DOI: 10.3724/SP.J.1206.2010.00210

阴离子通道是存在于生物膜(包括细胞质膜和亚细胞器内膜)上的蛋白质孔道, 可允许阴离子沿着其电化学势被动扩散。尽管阴离子通道可通透多种带负电荷的离子(如 I^- , NO_3^- 和 Cl^- 等), 但由于 Cl^- 是生物体中存在最丰富的阴离子, 阴离子通道也称为氯离子通道。氯离子通道的生理作用非常重要, 它能够调节离子的动态平衡和细胞体积、细胞兴奋性和跨上皮离子/液体运输。人们在研究遗传疾病和基因敲除动物模型中发现了氯离子通道的重要生理功能, 其功能缺失会导致囊性纤维化(cystic fibrosis, CF)和 Bartter' 综合症(跨上皮输运作用受损), 先天性肌强直症(肌肉兴奋性激增), 红细胞酸化减少, Dent's 疾病(胞吞作用受损), 骨骼石化症(胞外酸化作用受损)。另外, 鼠类中某些氯离子通道受到破坏后可致盲^[1]。

根据通道的分子结构, 目前研究较为完善的氯离子通道有以下三类: 一是电压门控的 CLC 氯离子通道, 在细菌中发现的 CLC 通道三维晶体结构表明其膜结合部分包括 17 个 α 螺旋, 而它们并不是与膜垂直, 而是明显地与膜表面倾斜^[2]; 二是受磷酸化调节的囊性纤维化跨膜传导调节因子(cystic fibrosis transmembrane conductance regulator, CFTR), 包含 12 个跨膜结构域, 2 个核酸结合折叠结构域和 1 个调节结构域; 三是受胞外配体结合调节的氯离子通道, 包括 γ -氨基丁酸(GABA)与甘氨酸受

体, 通道的每个亚基包含 4 个跨膜结构域, 每个通道蛋白为五聚体。以上三类氯离子通道的分子基础、通道特性和生理作用都研究得较为深入^[3]。另外, 目前其他一些可能的氯离子通道的特性还没有研究清楚, 其中包括引起众多研究者兴趣的钙激活氯离子通道(calcium-activated chloride channels, CaCCs; 亦称 anoctamin1, ANO1), 此类通道由于被细胞内部钙离子所激活而得名, 其介导的电流称为钙激活氯电流(Ca^{2+} -activated Cl^- currents, $I_{Cl,Ca}$)^[3]。

CaCCs 最早发现于非洲爪蟾卵母细胞中^[4], 随后, 相继有报道表明上皮细胞、血管内皮细胞、神经元、平滑肌和心肌细胞中都存在 CaCCs。由于钙离子介导的信号转导途径是真核生物信号转导的重要组成部分, 所以 CaCCs 执行多种功能, 包括: 卵细胞的受精、跨上皮离子/液体转运、心肌细胞的复极化和动作电位产生、嗅觉传导和平滑肌伸缩性调节^[5]。CaCCs 可以控制氯离子的外流, 在肾脏、气管、小肠、胰腺和唾液腺等组织上皮的电解质和水的定向输运方面起着重要作用。CaCCs 能够

* 国家自然科学基金(10975045, 10775038)和河北省自然科学基金(C2009000029)资助项目。

** 通讯联系人。Tel: 022-60204802

E-mail: zhany@hebut.edu.cn, cyf800205@yahoo.com.cn

收稿日期: 2010-04-18, 接受日期: 2010-06-14

通过控制血管内皮、平滑肌的紧张度和心肌细胞兴奋性来影响心肌功能^[6]。另外, CaCCs 能够通过改变膜电位调节神经细胞兴奋性, 从而控制光转导作用、嗅觉、味觉和躯体感觉^[7]。

由于技术上的原因, 有关 CaCCs 分子基础的问题一度未能解决, 曾有报道认为 CLCA、CLC-3、Bestrophins 和 Tweeny 是 CaCCs 分子基础的候选基因, 但以上蛋白质孔道产生的氯离子电流都与典型的天然 CaCCs 通道有本质的区别。事实上, 天然存在于多种组织和细胞类型中 CaCCs 的一个最普遍特征是可被细胞内钙离子调节的电压依赖性, 即在非最高钙离子浓度时, 天然 CaCCs 通道分别被正/负膜电位激活或者去活, 所以其电流-电压关系呈外向整流, 而在最高钙离子浓度时, 通道在正负膜电位都被完全激活, 此种情况下其电流-电压关系呈线性^[8-9]。尽管 $I_{Cl, Ca}$ 的研究历史已经有二十余年, 但它们的生理功能和调节机制依然有待阐明。Eggermont^[9]发表的综述文章用“(Un)known, (Un)loved?”这样的副标题来概括该领域的研究困境。这种困难主要是由于 CaCCs 尚缺少特异性的阻断剂, 并且电生理学研究成果说明有多种特点迥异的 CaCCs, 所以其分子基础问题一直没有得到解决。最近几个研究小组几乎同时报道了 CaCCs 的分子基础跨膜蛋白 16A(TMEM16A), 这将为在特定细胞和组织中研究氯离子通道的生理学和病理学相关问题提供新的研究平台。有关 TMEM16A 的研究报告不断涌现, 但目前对该领域缺乏较为系统的认识, 本文将综述当前 TMEM16A 研究中最新的研究成果和热点问题。

1 TMEM16A 为 CaCC 分子基础的发现过程

2008 年末, 三个研究小组分别采用不同的实验研究和理论预测的策略, 独立地报道了 TMEM16A 可能为 CaCC 分子基础的结果^[7, 10-11]。

Yang 等用生物信息学分析的方法预测分子结构中多于两个跨膜结构域的输运蛋白或通道, 最终得到了可能含有 8 个跨膜结构域(TMEM16A (NM_178642.4 gi: 110835695)。TMEM16A 与内皮素受体 A 共同转染入 HEK293 细胞后表达出强的内皮素诱导的氯离子电流。他们还采用定点突变技术找到了通道中可能的孔道环结构, 将该区域中三个高度保守的碱性氨基酸电荷电性反转, 结果

TMEM16A 通道变成阳离子选择性通道。他们通过小鼠的小 RNA 干扰(siRNA)实验观察到该实验降低了小鼠下颌腺 TMEM16A 的表达水平, 减少了匹鲁卡品诱导的唾液分泌量^[7]。Caputo 等则采用基因芯片分析的方法, 利用他们先前的发现, 即使用 IL-4 和 IL-13 等长期刺激人支气管上皮细胞可造成 UTP 激活的 CaCC 电流明显增加, 来搜索表达增高的基因。在几个高表达的膜蛋白基因中, TMEM16A mRNA 表达升高 7 倍。然后他们用 siRNA 处理 TMEM16A 引起了嘌呤能受体刺激的碘离子流动和跨上皮小电流环流; 并且证明了, CF 细胞中 IL-4 诱导 UTP 激活的 CaCC 活性在用 TMEM16A 相应的 siRNA 处理后显著降低^[10]。另外, 作者在 HEK293、COS7 和 FRT 细胞中表达 TMEM16A, 其氯离子电流均可被细胞内钙离子所诱导。Schroeder 等发现了蝾螈(*Ambystoma mexicanum*)卵母细胞中缺少 CaCCs, 而之前常用的表达系统——非洲爪蟾卵母细胞上本身就高表达 CaCCs, 其作用是阻止多精受精过程, 这正是以前的实验未能鉴定出 CaCCs 分子基础的关键所在。令人惊奇的是, 实验发现该蝾螈卵母细胞存在多精受精现象! 他们利用蝾螈卵母细胞表达非洲爪蟾卵母细胞(*Xenopus oocytes*)中的 CaCC mRNA, 从而发现了非洲爪蟾的 xTMEM16A 离子通道^[11]。以上三个小组都报道了 TMEM16A 通道在非最高浓度内钙条件下具有典型的电压依赖性和外向整流特性, 而在最高浓度的内钙水平时对电压的依赖性减小, 整流特性也不明显。该电流可被氯通道抑制剂尼氟酸(niflumic acid, NFA)、4, 4'-二异硫氰酰-2, 2'-二磺酸(4, 4'-diisothiocyanatostilbene-2, 2'-disulfonic acid, DIDS)强烈抑制。

与之前报道的 CLCA, CLC-3, Bestrophins 和 Tweeny 等候选基因不同, 三家独立的研究团队^[7, 10-11]利用不同的研究方法, 都得到了几乎完全相同的结论证明 TMEM16A 为 CaCCs 通道的分子基础, 互为印证, 殊途同归, 更加有力地提高了该结论的可信度。

2 TMEM16A 通道的特性

2.1 TMEM16A 的拓扑结构和组织定位

由于 CaCCs 具有至关重要的生理功能, 过去几年中有多个研究小组开始投入到该领域的研究中, 而有关 CaCC 通道在细胞中确切功能的假说也

不断涌现. TMEM16A 是目前在细胞膜上发现的较为明确的 CaCC 通道, 所以它的作用机制和作为 CaCC 通道的阴离子电流产生机制也引发了众多研究者的兴趣.

Tmem16a 属于 *Tmem16* 基因家族(*Tmem16a* 到 *k*), 人类有 10 种 *Tmem16a* 的同源基因. Yang 等在鼠眼中利用反转录聚合酶链式反应(RT-PCR)的方法克隆到了它的全长 cDNA, 其开放阅读框长度为 2 880 个核苷酸, 编码含 960 个氨基酸残基的蛋白质. 疏水性分析表明, TMEM16A 蛋白具有 8 个跨膜结构域, 小鼠的 *Tmem16a* 与人的同源基因之间有 91% 的序列相似性. 有趣的是, *Tmem16* 基因家族与其他的离子通道基因家族序列同源性非常低^[7]. 其中的 *Tmem16b* 与 *Tmem16a* 在基因序列上有 60% 的相似度, 其他成员的序列相似度较低. *Tmem16* 基因家族成员的蛋白质拓扑结构类似, 都具有 8 个跨膜(transmembrane, TM)结构和胞内的 N 端与 C 端, 基于它们的拓扑结构和在阴离子转运中的作用, 它们也被称为 *anoctamin1~10*. 值得注意的是, 它们的跨膜结构部分的一级结构保守性最大. TM5 和 TM6 跨膜区可能是形成通道的关键组分, 因为此区域带正电荷的氨基酸突变成带负电荷的谷氨酸(R621E, K645E 和 K668E)可显著降低通道对阴离子的通透性, 而可以同时升高对阳离子的通透性, 即改变通道的离子选择性^[7, 12]. TM3 上的精氨酸和 TM6 的谷氨酸突变也可改变该通道的离子选择性和电压依赖性^[11]. 构象一致性分析预测到 TMEM16A 蛋白的胞内部分可能具有多个蛋白激酶 A/C/G 和酪氨酸蛋白激酶磷酸化位点, 而在其胞外部分则具有多个糖基化位点. 尽管 TMEM16A 为细胞内钙所激活, 但一致性分析却未能找到钙离子结合常见的 EF 手结构或者钙离子-钙调蛋白(CaMK)结合常见的 IQ 模体^[7].

2.2 TMEM16A 的膜表面表达特性和组织分布

TMEM16A 在细胞膜表面有明显表达是它被确认为离子通道蛋白的原因之一. 2004 年, West 等在胃肠道间质瘤中用 cDNA 芯片的方法检测到了一些表达升高的基因, 其中包括一个叫做 *DOG1* 的未知基因, 现在知道它是 *Tmem16a* 基因. 作者用免疫组织化学技术检测到 *DOG1* 存在于细胞膜上, 医学诊断方面已经把 *DOG1* 的活性作为胃肠道间质瘤的辅助性标志, 在其他软组织瘤中较少表达^[13]. Rock 等^[14]用 RNA 原位杂交技术检测到了鼠肺末梢

上皮细胞 *Tmem16a* 基因的表达, 并且用免疫荧光方法检测到了鼠肺肿瘤源的 KLN205 细胞系中 GFP-TMEM16A 融合蛋白存在于细胞膜上. 最近, Yang 等用免疫组织化学的方法确认了 TMEM16A 在多种细胞中的表达, 肺支气管上皮细胞中免疫活性较强, 而肺泡细胞中却比较弱, 胰腺腺泡细胞能被 TMEM16A 抗体强烈地染色, 肾脏中, 上皮中央的免疫活性很强, 而肾小管末梢的表达较弱, 尤其是, 所有肾脏细胞层中 TMEM16A 免疫活性都非常强, 比如包含光受体小体的核外层、核内层和神经节细胞层. 背根神经节中除了卫星细胞以外的多数感觉神经元免疫染色都是阳性的, 这与神经传导中 CaCC 离子通道的调节作用是一致的^[7]. TMEM16A 在胃肠道肿瘤的表达升高, 它是小肠 Cajal 间质细胞的标志物, 存在于唾液腺和胰腺腺泡细胞、气管上皮细胞、气管平滑肌细胞、输卵管和附睾导管的平滑肌细胞中^[15].

通过对 TMEM16A 基因敲除小鼠的基因表达和表型分析, 配合其抗体的使用, 人们研究得到了它的组织分布. TMEM16A 广泛存在于多种人体组织中, 包括肝脏、骨骼肌、心脏、肺、胎盘和小肠中. 小鼠体内的前肠、气管上皮和气管平滑肌、肺、肾脏、胰腺腺泡、下颌下腺与感觉神经元中都发现了 TMEM16A 的表达^[7, 14]. 另外, Schroeder 等^[10]报道了 mTMEM16A mRNA 在唾液腺和腮腺中的高表达, 这是由副交感神经中的毒蕈碱型乙酰胆碱受体受激引起, 伴随胞内 IP₃ 和钙离子浓度的升高, 从而激活 CaCCs 促进液体分泌. 综上, 哺乳动物 TMEM16A 的表达模式和功能为 TMEM16A 与 CaCC 之间的联系提供了有力的证据.

2.3 TMEM16A 离子通道的电生理特征

TMEM16A 离子通道最明显的特征是它在不同的细胞表达系统中(如 HEK293 细胞、FRT 细胞和蝶螈卵母细胞)都表现出与典型的 CaCCs 非常相似的电压依赖型钙激活氯通道特征^[7, 10-11]. 即在非最高钙离子浓度, 正向膜电位引发慢激活电流, 相反地, 负向膜电位引发去活电流. 所以, 此种条件下的稳态电流-电压关系呈外向整流. 而提高细胞内钙浓度到微摩尔量级, 则逐渐使得这种电压依赖的通道激活电位数值变得更负. 在最高钙离子浓度条件下, 通道在所有膜电位条件下都能被激活^[10].

值得注意的是, 通道的开放可能存在时间依赖性. Yang 等在 HEK293T 细胞中转染 mTMEM16A

电生理学记录结果显示, 在 $I_{Cl, Ca}$ 被激活的早期, 电流值很小, 电流电压($I-V$)曲线呈现外向整流特性. 而随着电流值达到峰值, $I-V$ 曲线为线性^[7], 这与天然存在的 $I_{Cl, Ca}$ 整流特性相似^[9]. Schroeder 等^[10]在蝶螈卵母细胞中表达 xTMEM16A 记录到的 $I_{Cl, Ca}$ 也得到了相似的整流特性.

TMEM16A 的离子选择性与 CaCCs 通道也有类似之处. 特别是, 表达 TMEM16A 的细胞对阴离子的通透性排序如下: $NO_3^- > I^- > Br^- > Cl^- > F^-$, 这个顺序与天然的 CaCCs 通道几乎完全相同^[3, 7]. 有趣的是, Schroeder 等^[10]却报道了 TMEM16A 对阴离子选择性的通透性顺序并不固定. 所以, Kuruma 等^[17]结合以前对于非洲爪蟾卵母细胞中不同的 CaCCs 电流成分可能对应不同的阴离子选择性的报道^[17], 提出 CaCC 通道对不同阴离子的通透性与同一细胞表面不同离子通道的活性状态有关, 即表明每种不同的开放状态都有不同的离子选择性.

Yang 等发现, 与天然 CaCC 通道相似, TMEM16A 通道与钙离子的表观亲和力和受膜电位的影响: 膜电位为 -60 mV 时, 钙离子的半数有效浓度为 $2.6 \mu\text{mol/L}$; 膜电位为 $+60$ mV 时, 钙离子的半数有效浓度为 $0.4 \mu\text{mol/L}$. 他们认为这种特性可能是由于钙离子结合位点位于跨膜电场敏感的蛋白质结构内部, 另一种可能是钙离子结合位点是通过变构效应被膜电位所调节的^[7].

与阳离子通道不同, 多数阴离子通道的研究缺乏特异性激活剂或抑制剂. 实验中多数研究者采用 NFA、DIDS 和 NPPB 等作为 CaCCs 通道的典型抑制剂. Caputo 等^[14]发现, NPPB 和 NFA 能强烈抑制 TMEM16A 通道电流, 而 CFTR 选择性抑制剂 172 则不能. 在对选择性较差的抑制剂 tamoxifen 的报道中还存在分歧, Yang 等认为它有对 CaCC 通道的抑制活性, 而 Schoroeder 小组则认为它无抑制活性^[7, 10].

2.4 TMEM16A 的受体激活特性

在多种类型的细胞, 如唾液腺腺泡细胞和肺泡上皮细胞中 $I_{Cl, Ca}$ 可能是直接被胞内钙离子(浓度范围 $0.2 \sim 5 \mu\text{mol/L}$)所激活的, 而另外一些则可能是被 CaMK II 诱导或其他机制调节的^[3].

CaCCs 在生理条件下能被 G 蛋白偶联受体(G-protein coupled receptor, GPCR)所激活. 其中, 内皮素 1 可通过激活 CaCCs 使血管平滑肌发生极化, 引起肌肉的有力收缩. Yang 等分别研究了内

皮素 A 亚型受体(endothelin receptor subtype A, ET_AR)、血管紧张素 II 的 1 亚型受体(angiotensin II receptor subtype 1, AT1R)、毒蕈碱 1 亚型受体(muscarinic receptor subtype 1, M1R)、组胺 1 亚型受体(histamine receptor subtype 1, H1R)、嘌呤能 2 亚型受体(purinergic receptor subtype 2, P2Y2R)对通道的激活作用, 他们发现, 当分别加入以上受体的激动剂内皮素、血管紧张素 II、氯化氨甲酰胆碱(carbachol)、组胺或 ATP 以后会明显地增大 $I_{Cl, Ca}$. 另外, 实验中也观察到 HEK293 细胞中内源性 ET_AR、M1R 和 P2Y2R 的存在^[7]. 并且, Schroeder 等^[10]发现 GPCR 的刺激能使 xTMEM16A 的外向整流特性表现得更明显.

3 问题与展望

3.1 TMEM16A 与钙离子的结合位点及其调节物

由于 TMEM16A 对钙离子浓度的依赖性, 人们非常关心 TMEM16A 通道与钙离子的关系是直接结合还是通过某些中间传导通路的介导, 但目前 TMEM16A 通道被钙离子激活的分子机制尚未研究清楚. 如上所述, 在 TMEM16A 的基因序列中找不到与已知钙离子直接结合的结构域或与钙调蛋白结合结构相似的部分, 可能 TMEM16A 对钙离子的依赖性是通过其他蛋白质组分所介导的, 或者是通过其本身序列上某些位置上的钙离子结合结构域调节的.

最近, Pefferi 等报道了 HEK293 细胞中表达鼠 TMEM16B 通道(TMEM16B 也被报道为 CaCC 通道可能的分子基础^[7, 10]), 用全细胞和内面向外两种模式进行膜片钳实验记录. 在全细胞膜片钳模式中, TMEM16B 电流被从电极扩散到细胞内的钙离子直接激活, 作者将组胺受体与 TMEM16B 共转染入 HEK293 细胞, 通过组胺激活其受体从而提高细胞内钙的间接方法和紫外光解笼锁中 IP₃ 释放诱导钙离子浓度升高的直接方法都证明了以上结论. 在内面向外记录模式中, 电流被溶液中浓度可控的钙离子迅速激活, 表明 TMEM16B 是直接被钙离子门控的. 两种模式下, 钙离子激活的 TMEM16B 电流都具有阴离子选择性, 能被 NFA 抑制, 表现出钙离子依赖的整流特性. 在内面向外模式中, 半数最大电流对应的钙离子浓度从 $4.9 \mu\text{mol/L}$ (-50 mV)降低到 $3.3 \mu\text{mol/L}$ ($+50$ mV). 另外, 作者在内面向外模式中观察到一个在全细胞记录模式中没有得到的结果, 即在内面向外记录模式中存在

一个不可逆的 rundown, 提示可能在膜片从细胞上撕下后损失了某些未知的调节子, 造成了这种 rundown^[18].

3.2 其他 TMEM16 基因家族成员是否为 CaCC 通道

Schroeder 等首先报道了小鼠 mTMEM16B 在蝶腺卵母细胞中的同源基因可以产生钙激活的氯离子电流, 但未对钙通道的电生理特性做深入研究^[11]. 最近有报道认为 TMEM16B 可以介导钙离子激活的氯离子通道, 并详细报告了其电流特性^[18]. 小鼠 mTMEM6B(基因编号为 BC033409、MGC38715, 也称为 Ano2)在小鼠的多种组织和器官中均有表达, 包括视网膜、嗅觉上皮细胞、胰腺细胞、唾液腺细胞等, 另外, 在发育中的小鼠神经系统中(神经管和背根神经节)也检测到了该基因的表达^[19]. 目前未见其他 TMEM16 基因家族成员证实是 CaCC 通道的报道. 有关 TMEM16A 的其他家族成员可否表达 CaCC 或其他氯离子通道的研究也是该领域研究者关注的重要问题之一.

3.3 TMEM16A 有望成为新的药物作用靶点

TMEM16A 基因敲除小鼠表现为明显的气管软化, 出生后很快死亡. Rock 等^[20]报道了 TMEM16A 基因敲除小鼠气管中有黏液积累, 这是一个新的发现, 表明 TMEM16A 基因敲除小鼠至少与 CF 的症状存在相似之处. CF 是一种严重的遗传性疾病, 由上皮组织氯离子通道上 CFTR 的基因突变所致, 该疾病造成离子或液体转运不平衡, 导致患者气管表面严重脱水、黏液积累和带有抗生素抗性细菌的大量繁殖^[21]. 在 CF 研究领域, 已经确认 CFTR 基因敲除小鼠不会罹患 CF 类疾病, 有人认为这种奇怪现象的解释是它还有一个能够补偿 CFTR 基因功能的氯离子通道在起作用. 现在看来, 可能 TMEM16A 就是这个补偿性的氯离子通道. 实际上, TMEM16A 基因敲除小鼠表现出黏膜纤毛转运功能损伤的特点. 过去曾有学者认为激活 CaCCs 可能是治疗 CF 的有效疗法, 但由于缺乏其特异性激动剂和其分子基础尚未研究清楚, 此种疗法的发展受到束缚^[3]. 现在 TMEM16A 确定为 CaCCs 的分子基础, 它极有可能成为 CF 疾病中氯离子转运缺陷治疗可能的药物靶点.

TMEM16A 是另外一些疾病可能的药物靶点. CaCCs 的抑制剂可以引起血管扩张, 人们可以设计用来调节 TMEM16A 的药物, 以期治疗高血压、哮喘和胃肠动力障碍性疾病. 应当注意 TMEM16A

在不同组织和器官中有特异性的表达特点, 研究者需要设计出专门治疗特定疾病的药物, 减少其毒副作用.

另外, TMEM16 基因家族, 特别是 TMEM16A 在人类癌症中有过量表达. 实际上, TMEM16A 早已为肿瘤学家所熟知, 不过名字曾经叫过 DOG-1, ORAOV2 和 TAOS-2, 主要是根据其在不同肿瘤上的高水平表达命名^[22-24]. 目前对于癌症和氯离子通道的关系还不清楚. 而 CaCCs 通道在细胞增殖、迁移和组织癌细胞程序性死亡过程中可能有重要作用, 据此可以推测 TMEM16A 可能成为未来肿瘤治疗中的诊断标志和药物作用靶点.

自 TMEM16A 基因被报道为 CaCCs 可能的分子基础以来, TMEM16A 引起了研究者广泛重视, 取得了一些进展. 2010 年人们又在不同的生物组织中鉴定到了 TMEM16A 的表达, 如肺动脉平滑肌细胞、颌下腺腺泡细胞等^[25-26], 进一步确认了该通道的电生理特性, 同时也发现了更多该通道的可变剪接产物, 丰富了它们的基因序列数据. 特别是, Liu 等^[27]发现缓激肽诱发的急性痛觉信号是由 M 型钾离子通道(也称 KCNQ 通道, 或 Kv7.1~7.5)的抑制和 TMEM16A 的激活共同介导的. 这为人们理解急性痛觉信号的机制提供了新的研究思路, 也为抗痛觉药的研究提供了新的作用靶点. 尽管如此, TMEM16A 基因的作用机制、信号调控通路、生理学和病理学特别是肿瘤发生方面的作用机制还有待阐明, 需要相关领域研究者进一步努力.

参 考 文 献

- [1] Jentsch T J, Stein V, Weinreich F, et al. Molecular structure and physiological function of chloride channels. *Physiol Rev*, 2002, **82**(2): 503-568
- [2] Dutzler A, Campbell E B, Cadene M, et al. X-ray structure of a ClC chloride channel at 3.0 Å reveals the molecular basis of anion selectivity. *Nature*, 2002, **415**(6869): 287-294
- [3] Hartzell C, Putzier I, Arreola J. Calcium-activated chloride channels. *Annu Rev Physiol*, 2005, **67**: 719-758
- [4] Barish M E. A transient calcium-dependent chloride current in the immature *Xenopus* oocyte. *J Physiol*, 1983, **342**(1): 309-325
- [5] Eggermont J. Calcium-activated Chloride Channels, (Un)known, (Un)loved?. *Proc Am Thorac Soc*, 2004, **1**(1): 22-27
- [6] Nilius B, Prenen J, Szűcs G, et al. Calcium-activated chloride channels in bovine pulmonary artery endothelial cells. *J Physiol (Lond)*, 1997, **498**(2): 381-396
- [7] Yang Y D, Cho H, Koo J Y, et al. TMEM16A confers receptor-activated calcium-dependent chloride conductance. *Nature*, 2008, **455**(7217): 1210-1215

- [8] Galletta L J V. The TMEM16 protein family: A new class of chloride channels?. *Biophys J*, 2009, **97**(12): 3047–3053
- [9] Kuruma A, Hartzell H C. Bimodal control of a Ca^{2+} -activated Cl^- channel by different Ca^{2+} signals. *J Gen Physiol*, 2000, **115**(1): 59–80
- [10] Schroeder B C, Cheng T, Jan Y N, *et al.* Expression cloning of TMEM16A as a calcium-activated chloride channel subunit. *Cell*, 2008, **134**(6): 1019–1029
- [11] Caputo A, Caci E, Ferrera L, *et al.* TMEM16A, a membrane protein associated with calcium-dependent chloride channel activity. *Science*, 2008, **322**(5901): 590–594
- [12] Amel G L, Forugh V S, Jason R R, *et al.* Expression patterns of the Tmem16 gene family during cephalic development in the mouse. *Gene Expr Patterns*, 2009, **9**(3): 178–191
- [13] West R B, Corless C L, Chen X, *et al.* The novel marker, DOG1, is expressed ubiquitously in gastrointestinal stromal tumors irrespective of KIT or PDGFRA mutation status. *Am J Pathol*, 2004, **165**(1): 107–113
- [14] Rock J R, Futtner C R, Harfe B D. The transmembrane protein TMEM16A is required for normal development of the murine trachea. *Dev Biol*, 2008, **321**(1): 141–149
- [15] Huang F, Rock J R, Harfe B D, *et al.* Studies on expression and function of the TMEM16A calcium-activated chloride channel. *Proc Nat Acad Sci USA*, 2009, **106**(50): 21413–21418
- [16] Hartzell H C, Yu K, Xiao Q, *et al.* Anoctamin/TMEM16 family members are Ca^{2+} -activated Cl^- channels. *J Physiol*, 2009, **587**(10): 2127–2139
- [17] Kuruma A, Hartzell H C. Dynamics of calcium regulation of chloride currents in *Xenopus* oocytes. *Am J Physiol*, 1999, **276**(1): 161–175
- [18] Pifferi S, Dibattista M, Menini A. TMEM16B induces chloride currents activated by calcium in mammalian cells. *Pflug Arch Eur J Phys*, 2009, **458**(6): 1023–1038
- [19] Rock J R, Harfe B D. Expression of TMEM16 paralogs during murine embryogenesis. *Dev Dynam*, 2008, **237**(9):2566–2574
- [20] Rock J R, O'Neal W K, Gabriel S E, *et al.* Transmembrane protein 16A (TMEM16A) is a Ca^{2+} -regulated Cl^- secretory channel in mouse airways. *J Biol Chem*, 2009, **284**(22): 14875–14880
- [21] Riordan J R. CFTR function and prospects for therapy. *Annu RevBiochem*, 2008, **77**(1): 701–726
- [22] Huang X, Gollin S M, Raja S, *et al.* High-resolution mapping of the 11q13 amplicon and identification of a gene TAOS1, that is amplified and overexpressed in oral cancer cells. *Proc Nat Acad Sci USA*, 2002, **99**(17):11369–11374
- [23] West R B, Corless C L, Chen X, *et al.* The novel marker, DOG1, is expressed ubiquitously in gastrointestinal stromal tumors irrespective of KIT or PDGFRA mutation status. *Am J Pathol*, 2004, **165**(1):107–113
- [24] Carles A, Millon R, Cromer A, *et al.* Head and neck squamous cell carcinoma transcriptome analysis by comprehensive validated differential display. *Oncogene*, 2006, **25**(12): 1821–1831
- [25] Manoury B, Tamuleviciute A, Tammaro P. TMEM16A/Anoctamin1 protein mediates calcium-activated chloride currents in pulmonary arterial smooth muscle cells. *J Physiol*, 2010, doi: 10.1113/jphysiol.2010.189506
- [26] Romanenko V, Catalán M, Brown D A, *et al.* Tmem16A encodes the Ca^{2+} -activated Cl^- channel in mouse submandibular salivary gland acinar cells. *J Biol Chem*, 2010, **285**(17): 12990–13001
- [27] Liu B, Linley J E, Du X, *et al.* The acute nociceptive signals induced by bradykinin in rat sensory neurons are mediated by inhibition of M-type K^+ channels and activation of Ca^{2+} -activated Cl^- channels. *J Clin Invest*, 2010, **120**(4): 1240–1252

TMEM16A: Advances in Calcium-activated Chloride Channel*

CHEN Ya-Fei, LI Ting, AN Hai-Long, YU Hui, ZHANG Su-Hua, HAN Ying-Rong,
ZHANG Yu-Hong, GUO Peng, ZHAN Yong**

(School of Sciences, Hebei University of Technology, Tianjin 300401, China)

Abstract Calcium (Ca^{2+})-activated chloride channels play fundamental roles in numerous physiological processes including transepithelial ion/fluid secretion, cardiac and neuronal excitation, sensory transduction, smooth muscle contraction and fertilization, etc. Despite their physiological importance, the molecular identity of CaCC has not fully invested till now. Here the newly discovered CaCCs molecular basis TMEM16A was reviewed in the respects of the identification processes, gene structure and functions, ion channel's electrophysiological characters, related diseases, pharmacological functions and other current hot issues in the fields. The developmental trends of this field were discussed.

Key words calcium-activated chloride channels (CaCC), molecular basis, transmembrane protein 16A (TMEM16A), electrophysiology, pharmacology

DOI: 10.3724/SP.J.1206.2010.00210

*This work was supported by grants from The National Natural Science Foundation of China (10975045, 10775038) and The Natural Science Foundation of Hebei Province (C2009000029).

**Corresponding author.

Tel: 86-22-60204802, E-mail: zhany@hebut.edu.cn, cyf800205@yahoo.com.cn

Received: April 18, 2010 Accepted: June 14, 2010